

USO DE ALGAS PARA OBTENER BIOCOMBUSTIBLE Y BIOENERGÍA CON BASE EN BIOTECNOLOGÍA MARINA

Montserrat Libreros Castillo y Iarubitzel Mendieta Morales

iarubi.m1@gmail.com

ABSTRACT

The exploitation of marine ecosystems can lead to a large range of economic opportunities bearing in mind an environmental-friendly approach. In this paper, we report two important findings that deal with the use of microalgae; the former is that microalgae can be used to obtain biofuel and bioenergy as a consequence of the constant research carried out in marine biotechnology, and the latter has to do with the use of these to solve contamination issues by greenhouse gases.

KEY WORDS: Marine Biotechnology, Biofuels, Bioenergy, Microalgae

RESUMEN

La explotación de los ecosistemas marinos representa grandes oportunidades económicas con un enfoque de respeto hacia el medio ambiente. Este artículo presenta dos hallazgos importantes con respecto al uso de las microalgas: (1) a partir de las constantes investigaciones en biotecnología marina, las microalgas se pueden usar para obtener biocombustibles y bioenergía, y (2) el uso de estos para resolver el problema de la contaminación por gases de efecto invernadero.

PALABRAS CLAVE: Biotecnología Marina, Biocombustibles, Bioenergía, Microalgas

INTRODUCCIÓN

La ingeniería genética con microalgas está por llegar a una etapa de auge como una técnica nueva para la obtención de biocombustibles que no sean dañinos para el medio ambiente. Éste es un campo donde muy pocos investigadores han incursionado, pero al hacerlo la industria de combustibles y la preservación de la ecología se beneficiarán en gran medida. Por esta razón, en este artículo abordaremos temas de esta índole, donde la vida marina representa grandes oportunidades para la investigación y la solución de algunas necesidades de la vida cotidiana como la producción de combustible y fármacos de manera innovadora al ser, el primero, un tipo de combustible respetuoso del medio ambiente y, los segundos, medicamentos producidos a partir de algas.

Este artículo se enfoca en el estudio de las microalgas que incluyen cianobacterias procariontas y eucariotas, como las algas *Chlamydomonas* y *Nannochloropsis*. Algunos bioingenieros pronostican que las microalgas serán

rediseñadas para producir biocombustibles con base en investigaciones que se hacen en biología sintética, un método avanzado de creación de organismos genéticamente modificados (OGMs; Dana et al, 2012). Los métodos de alto rendimiento para la secuenciación de ADN, como la metagenómica, la hibridación, la evolución acelerada y la ingeniería genética, son cada vez más eficientes y asequibles y han permitido que se recojan miles de cepas de algas en todo el mundo para obtener materiales genéticos primos.

Actualmente, las microalgas ofrecen grandes posibilidades que deben ser aprovechadas para propósitos como la alimentación humana y animal y la bioenergía o para sectores como el nutracéutico, el medioambiental, el agrícola o el cosmético. El éxito de su aplicación se basa en un conocimiento biotecnológico y en una visión realista del mercado donde se desean introducir a través de la innovación para su desarrollo. Como es evidente, las microalgas son un recurso biológico

emergente en países como E.E.U.U., Francia, España e Israel por las múltiples propiedades y aplicaciones que pueden tener a través de productos de alto valor en campos muy diversos. No obstante, llevar a cabo proyectos relacionados con su cultivo y aplicación depende de diversos aspectos, como saber cuál es su potencial, identificar los posibles costos de producción y las vías de financiación que existen para realizar estos proyectos.

BIOTECNOLOGÍA MARINA

La biotecnología marina es un campo emergente centrado en la investigación y el desarrollo de aplicaciones tecnológicas de los organismos marinos, así como en sus derivados y bioprocesos. En una definición más amplia, la biotecnología marina se basa en el uso de los organismos marinos o de sus componentes para proporcionar bienes o servicios. Los productos marinos derivados se han utilizado en diversas áreas, como la salud, el medio ambiente, la remediación, nuevos procesos industriales, nuevos productos farmacéuticos y el suministro de alimentos. Hoy día, más investigadores aplican las herramientas de la

biotecnología para el descubrimiento y la producción de productos naturales marinos (Baerga-Ortiz, 2009, citada por Freitas, Rodrigues, Rocha-Santos, Gomes y Duarte, 2012).

Desde los primeros días de la biotecnología, el desarrollo de un producto biotecnológico requiere conocimientos multidisciplinarios (microbiología, química, conocimiento de la fermentación, tecnologías de proceso, entre otros). Estos no sólo tienen un fuerte impacto en la investigación y el desarrollo, sino también en el ámbito de la libertad para operar los estudios que se deben implementar para evitar riesgos de infringir los derechos de propiedad industrial en poder de terceros.

La bioprospección generalmente da como resultado el aislamiento de un organismo vivo, que es el punto de partida de todo el proceso. Se trata de un elemento material (microorganismo y otros) que se encuentra en la naturaleza. A partir de esta materia prima el investigador extrae la información que será el verdadero punto de partida del desarrollo. Esta información, que puede aparecer de

diversas formas tales como secuencias genéticas, clones o metabolitos secundarios, se transforma en valor por la creación de un nuevo producto o por la aplicación de un nuevo proceso.

La combinación de la investigación marina y la biología sintética es prometedora. Los océanos son espacios que aún no han sido explotados suficientemente y contienen una gran biodiversidad que podría proporcionar nuevos productos y procesos industriales. Considerando el desarrollo de la biología sintética, en particular en el marco de programas destinados a aplicaciones industriales, es evidente que la biotecnología marina se beneficia plenamente de esta tecnología emergente que se puede describir en términos generales como el diseño y la construcción de nuevas vías biológicas artificiales, organismos o dispositivos, o el rediseño de sistemas biológicos naturales existentes (Bloch y Tardieu-Guigues, 2014).

Hay numerosos seres vivos marinos de interés industrial como las plantas (por ejemplo, algas verdes y rojas o marrón), animales o microorganismos (bacterias y hongos). Las esponjas y los corales

desarrollaron sistemas de defensa basados en la producción de sustancias químicas. Estos metabolitos pueden llegar a ser nuevos fármacos. Las enzimas de las especies que viven cerca de las fuentes hipertermales fueron identificadas para tener aplicaciones industriales y han demostrado ser muy útiles en el campo de la biología molecular.

MICROALGAS

Las microalgas son parte importante del ecosistema acuático. Éstas incluyen microorganismos unicelulares, los cuales llevan a cabo la fotosíntesis. Las microalgas son organismos fotoautótrofos, es decir, organismos que obtienen la energía de la luz proveniente del sol que se desarrolla a partir de materia inorgánica. También existen otras especies de microalgas que son capaces de crecer empleando materia orgánica como fuente de energía o de carbono.

La producción de microalgas se divide en:

- Fotoautótrofas: algas que obtienen la energía del sol y el

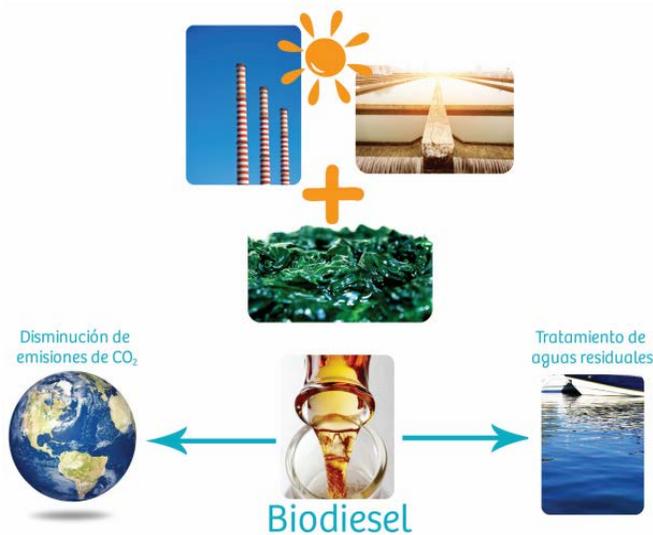
carbono de los compuestos inorgánicos (sales).

- Ftoheterótrofa: algas que obtienen la energía del sol y emplean compuestos orgánicos como fuentes de carbono.
- Mixotrófica: muchas algas son capaces de crecer bajo procesos tanto autótrofos como heterótrofos de manera que la fuente de energía es tanto la luz como la materia orgánica. El carbono se obtiene, por lo tanto,

de compuestos orgánicos y del CO₂. Algunas de estas algas son la especie *Spirulina* o la especie *Chlamydonas reinhardtii*.

- Heterótrofas: los compuestos orgánicos proporcionan tanto la energía como la fuente de carbono de estas algas.

El uso de algas está involucrado en la obtención de diversos productos que tienen como propósito la viabilidad económica y ambiental.



Uso de algas como filtradoras de efluentes de piscifactorías y fuente de recursos de sustancias de interés energético, agronómico, piscícola y biomédico-farmacológico

Figure 1. (MALGAS, 2013)

BIOCOMBUSTIBLE

Se denominan biocarburantes al conjunto de combustibles líquidos elaborados a partir de materia vegetal que pueden sustituir a los combustibles convencionales en motores de combustión.

La relación de biocarburantes según la U.E. es:

- Bioetanol: etanol producido para uso como biocarburante a partir de la biomasa o de la fracción biodegradable de los resultados.
- Biodiesel: éster metílico producido a partir de un aceite vegetal o animal de calidad similar al gasóleo para que se use como biocarburante.
- Biogas: combustible gaseoso producido a partir de la biomasa y la fracción biodegradable de los residuos y que puede ser purificado hasta alcanzar una calidad similar a la del gas natural para uso como biocarburante o gas de madera.
- Biometanol: metanol producido para ser usado como

biocarburante a partir de la biomasa.

- Biodimetiléter: dimetiléter producido a partir de la biomasa.
- BioETBE (etil éter-butil éter): producido a partir de bioetanol. La fracción volumétrica de bioETBE que se computa como biocarburante es de 47% (Castells y Jurado, 2012).

La obtención de biocombustible por medio de algas es un nuevo reto para las ciencias como la biotecnología, ya que para ello se necesitan estudios y modificación genética de las mismas. Por ahora se sabe que las algas más estudiadas para lograrlo son las cianobacterias procariontas y eucariotas, como las algas *Chlamydomonas* y *Nannochloropsis* como las que se muestran en la Figura 1 (Snow y Smith, 2012). El uso de ADN recombinante ofrece mayor libertad para mejorar el rendimiento de las cepas salvajes. De hecho, la empresa Monsanto colabora con la empresa Sapphire Energy para descubrir nuevos genes que confieran un rápido crecimiento y otros rasgos beneficiosos con el propósito de acelerar la comercialización de algas con posibles aplicaciones.



El género *Nannochloropsis* comprende al menos seis especies de algas fotoautótrofas en el linaje *Eustigmatofyceae stramenopile* que se encuentra en agua dulce y salobre en las aguas del océano. Las células *Nannochloropsis* se reproducen asexualmente engendrando dos células hijas que a su vez derraman su pared celular madre. Varias especies *Nannochloropsis* se han estudiado como cepas de producción candidatas en las instalaciones de biocombustibles a gran escala debido a sus perfiles resistentes de crecimiento al aire libre y rendimientos elevados de lípidos. También son productores de pigmentos valiosos y aceites nutritivos que se utilizan comúnmente como alimentación de acuiculturas. A pesar de la importancia de las propiedades de la pared celular de algas en aplicaciones biotecnológicas, hay poca información estructural de la mayoría de las especies. La pared celular *Chlamydomonas reinhardtii* es la más ampliamente caracterizada y parece

estar construida enteramente de un conjunto de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina dispuestas en seis capas distintas. Sin embargo, las paredes celulares de algas muestran gran diversidad con variaciones en los componentes moleculares, los vínculos intra e intermoleculares y la estructura general. Los constituyentes de la pared pueden incluir hidratos de carbono, proteínas, lípidos, carotenoides, taninos e incluso lignina. Hay mucho por aprender acerca de cómo estos componentes forman capas discretas alrededor de la célula y cómo se reconfiguran en respuesta a señales fisiológicas y ambientales (Scholz et al., 2014).

Las microalgas son consideradas una de las materias primas más prometedoras para los biocombustibles. La productividad de estos microorganismos fotosintéticos para convertir dióxido de carbono en lípidos ricos en carbono que están a uno o dos pasos del biodiesel es muy superior a la

de las oleaginosas agrícolas sin competir por la tierra cultivable. A nivel mundial, se llevan a cabo programas de investigación y demostración para desarrollar la tecnología necesaria para aumentar la producción de lípidos de las algas de una nave a un proceso industrial importante. Aunque las microalgas aún no se producen a gran escala para aplicaciones a granel, los recientes avances, particularmente en los métodos de la biología de sistemas, la ingeniería genética y las oportunidades de biorrefinería, estarán presentes para desarrollar este proceso de una manera sostenible y económica dentro de los próximos 10 a 15 años (René H. Wijffels y Maria J. Barbosa, 2010).

Hay diversos métodos para obtener energía, pero entre los más utilizados están los siguientes: hidrogenación, pirolisis, fermentación, hidrolisis más fermentación, extracción más esterificación y gasificación.

Se han llevado a cabo estudios donde se ha demostrado la producción de metano por medio de dos cepas que son *Gaditana Nannochloropsis* y *Scenedesmus Almeriensis*.

Las algas fueron licuadas como biomasa cruda después de extraer lípidos y proteínas. Luego, se realizaron experimentos a diferentes temperaturas (300-375 °C) durante 5 y 15 min una vez extraídas en microautoclave. Los resultados indicaron que la extracción de las proteínas a partir de las microalgas antes de HTL puede ser un enfoque útil para mejorar la economía del proceso, al mismo tiempo que se reduce el contenido de nitrógeno de la biomasa cruda.

La optimización de la productividad de los biocombustibles, en términos del contenido de lípidos, del contenido de polisacáridos y del valor calorífico a partir de microalgas, se realizó mediante cuatro variables: temperatura, intensidad de la luz, contenido de nitrógeno y CO₂. Además, se utilizó un diseño factorial completo y un análisis estadístico que muestra la influencia de cada variable y sus interacciones.

Como resultado, se observó que la mayor productividad de los biocombustibles se generó en las siguientes condiciones: temperatura > 25 °C, intensidad de la luz > 60 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, contenido de nitrógeno < 50 mg L⁻¹ y CO₂ > 18 mL L⁻¹ d⁻¹.

Se encontró que un período de incubación de 10 días era el tiempo de cultivo más favorable para la producción de lípidos en las condiciones investigadas.

En relación a los resultados, las microalgas produjeron $430 \text{ cm}^3\text{-CH}_4 \text{ g}$

volátiles sólidos⁻¹ (g-VS) ($\sigma = 60$). Esto quiere decir que se produjo tres veces más metano en el control, $140 \text{ cm}^3\text{-CH}_4 \text{ g-VS}^{-1}$ ($\sigma = 30$) (Choudri y Baawain, 2015).

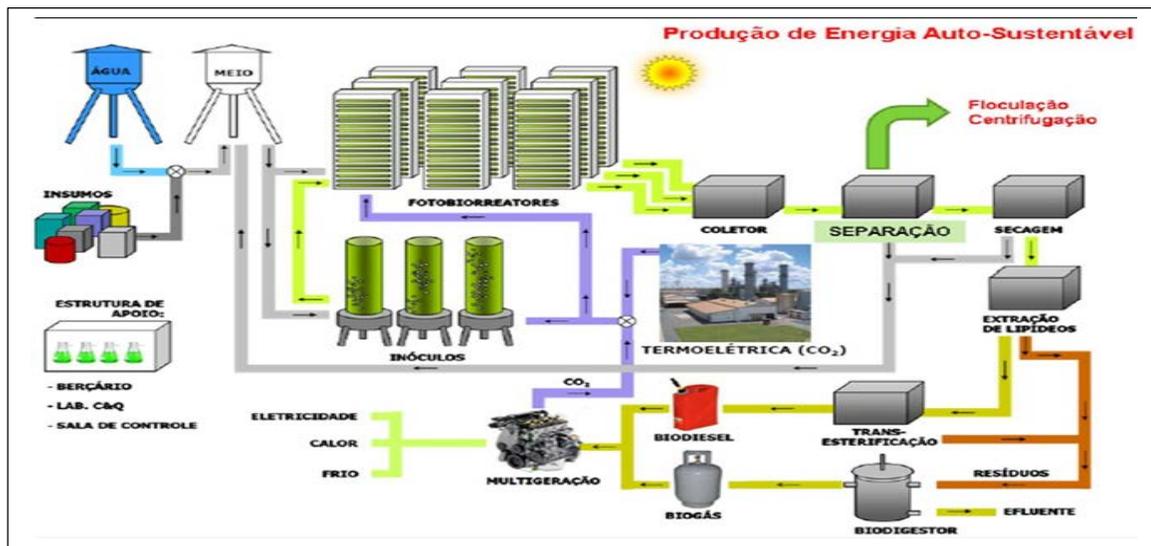


Figura 3. A pesar de ser un producto muy atractivo para la investigación científica y el cuidado del medio ambiente, todavía hay una serie de problemas que pueden afectar su viabilidad económica: los altos costos asociados con (1) la cosecha, que pueden representar hasta 50% del costo del biocombustible total, (2) los nutrientes oferta y (3) la extracción de petróleo (Miranda et al., 2015)

La producción de biocombustibles líquidos a partir de biomasa ha sido un gran logro de la biotecnología porque son una fuente renovable y abundante en lugares donde los combustibles líquidos derivados de petróleo no están disponibles (Stephanopoulos et al., 2008). En años recientes se han

estudiado los impactos tanto económico como ambiental de la producción de biocombustibles, como etanol, metano, hidrógeno y biodiesel, donde resalta la importancia del estudio de la producción de biodiesel debido a que es la única tecnología capaz de sustituir el consumo de combustibles derivados de petróleo

(Chisti, 2011), principalmente aquéllos destinados para el sector transporte. Además, éste ofrece ventajas ambientales como la reducción de emisiones de 70 a 90% en comparación al diesel convencional (Timilsina y Mevel, 2010).

BIOENERGÍA

La bioenergía se refiere al tipo de energía renovable que se produce a partir de la biomasa, que es material orgánico generado por árboles, plantas (incluyendo cultivos) y materiales de desecho (residuos de madera de fábricas, residuos municipales, estiércol, gas de relleno sanitario–GRS–y metano de tratamiento de aguas residuales) (Epa, 2009).

Como se mencionó anteriormente, las algas son la principal materia prima para obtener ya sea biocombustibles o bioenergía y son productores primarios en los ecosistemas acuáticos, donde las bacterias heterótrofas crecen en compuestos orgánicos producidos por éstas y reciclan nutrientes. Los estudios ecológicos han identificado la función de determinadas especies de algas y bacterias, lo que sugiere la presencia de sus interacciones específicas. Las interacciones algas–bacterias se

clasifican en intercambio de nutrientes, transducción de señales y transferencia de genes. Los estudios han examinado cómo estas interacciones conforman las comunidades acuáticas e influyen en los ciclos geoquímicos del medio natural. Asimismo, se han hecho esfuerzos para explotar las algas en procesos biotecnológicos, como el tratamiento de agua y la producción de bioenergía, donde las bacterias influyen en las actividades de las algas de diferentes maneras. Una mejor comprensión de los mecanismos subyacentes a las interacciones de algas–bacterias aún sin explotarse facilitará el desarrollo de procesos biotecnológicos más eficientes (Kouzuma y Watanabe, 2015).

Se ha observado que los estanques de algas de primera calidad (HRAP, por sus siglas en inglés) y las biopelículas de microalgas permiten la recuperación de nutrientes, como nitratos y fosfatos, de las aguas residuales municipales y la eliminación de desechos tóxicos. En estos procesos, las microalgas utilizan los productos finales del metabolismo bacteriano (por ejemplo, CO₂ y amoníaco) y proporcionan bacterias aerobias con el oxígeno necesario para la degradación de compuestos

orgánicos. Este proceso puede aumentar la eficiencia de los recursos convirtiendo a la eutrofización en una oportunidad para la producción de biomasa. El tratamiento de aguas residuales con HRAP podría proporcionar un tratamiento rentable y eficiente de aguas residuales de nivel terciario con los beneficios de la producción de la biomasa de algas para el uso de biocombustibles.

La enorme productividad de biomasa a partir de microalgas de las aguas residuales de las cosechas sugiere que este método de cultivo ofrece un medio viable para la energía sostenible al ser benéfica para la cadena alimenticia en

el ecosistema local. El uso de esta biomasa no puede ser reconocido como adecuado para la industria alimentaria, pero puede ser adecuado para las tecnologías de conversión de energía, incluyendo la digestión anaeróbica o combustible de células microbianas. Las células microbianas de combustible emplean la respiración anaeróbica de los microorganismos para convertir residuos orgánicos (combustible) directamente en electricidad útil, la cual puede ser utilizada para energizar aplicaciones prácticas (Gajda, Greenman, Melhuish y Ieropoulos, 2015).



Actualmente, se propone un sistema de uso integrado de energía de alta eficiencia que consiste en el secado, la gasificación y el ciclo combinado para las algas. La integración se realiza con

base en el concepto de tecnologías de recuperación de energía y de integración de procesos. En general, la energía involucrada en cada proceso se recupera eficazmente. Además, la

energía irrecuperable en un sólo proceso se puede utilizar en otros procesos con el principio de la integración de procesos. La combinación de estas tecnologías puede reducir la destrucción total de energía en todo el sistema integrado. Por lo tanto, se puede lograr una mejora significativa en la eficiencia energética al alcanzar una alta eficiencia total de la generación de energía.

Se utilizó *Alga Laminaria* como muestra durante el cálculo del proceso y se realizaron dos tipos principales de análisis en relación con el rendimiento de secado y la generación total de energía. A medida que los resultados del estudio se conocieron, el sistema integrado propuesto mostró una eficiencia muy alta de energía. Se puede lograr una recolección de energía significativamente positiva de las algas con eficiencia total de generación de energía de aproximadamente 40% (Aziz et al., 2015).

CONCLUSIÓN

El uso de microalgas para la producción de biocombustibles, bioenergía y medicamentos está en auge a nivel mundial. A medida que avanza la tecnología, se desarrollan herramientas que serán usadas para investigaciones en biotecnología marina que, a pesar de ser un campo emergente, está asumiendo un papel importante a nivel mundial a través de los planteamientos y la resolución de problemas sociales. Esto no sólo representa un paso importante a nivel social, sino también toma en cuenta los problemas ambientales para tratar de encontrar soluciones. Finalmente, el gran potencial en el uso de algas representa innovaciones biotecnológicas que revolucionarán la ciencia para producir cambios que nos brinden mejores oportunidades de desarrollo.

BIBLIOGRAFÍA

- Agbakpe, M.; Ge, S.; Zhang, W.; Zhang, X.; and Kobylarz, P. (2014). Algae harvesting for biofuel production: influences of UV irradiation and polyethylenimine (PEI) coating on bacterial biocoagulation. *Bioresource*

technology, Vol. 166, pp. 266–72.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414007196>

- Azadi, P. and George, M. (2014). The carbon footprint and non-renewable energy demand of algae-derived biodiesel. *Applied Energy*, Vol. 113 pp. 1632–1644.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261913007745>
- Aziz, M.; Oda, T.; Mitani, T.; Kurokawa, T.; Kawasaki, N.; and Kashiwagi, T. (2015). Enhanced Energy Utilization System of Algae: Integrated Drying, Gasification and Combined Cycle. *Energy Procedia*, 75, 906–911.
<http://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.07.229>
- Bloch, J.-F. and Tardieu-Guigues, E. (2014). Marine biotechnologies and synthetic biology, new issues for a fair and equitable profit-sharing commercial use. *Marine Genomics*, 17, 79–83. <http://doi.org/10.1016/j.margen.2014.07.003>
- Brownbridge, G.; Azadi, P.; Smallbone, A.; Bhave, A.; Taylor, B.; and Kraft, M. (2014). The future viability of algae-derived biodiesel under economic and technical uncertainties. *Bioresource technology*, Vol 151, pp. 166–73.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852413016490>
- Chen, H.; Qiu, T.; Rong, J.; He, C.; and Wang, Q. (2015). Microalgal biofuel revisited: An informatics-based analysis of developments to date and future prospects. *Applied Energy*, Vol. 155, pp. 585–598.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261915008132>
- Choudri, B. S. and Baawain, M. (2015). Bioenergy from Biofuel Residues and Wastes. *Water Environment Research*, 87 (10), 1414–1444.
<http://doi.org/10.2175/106143015X14338845155985>
- Coelho, M.; Barbosa, F.; and Souza, M. (2014). The scientometric research on macroalgal biomass as a source of biofuel feedstock. *Algal Research*, Vol. 6, pp. 132–138. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221192641400109X>
- Epa. (2009). What is Bioenergy ? State Bioenergy Primer, 7–24.
- Freitas, A. C.; Rodrigues, D.; Rocha-Santos, T. A. P.; Gomes, A. M. P., and Duarte, A. C. (2012). Marine biotechnology advances towards applications in new functional foods. *Biotechnology Advances*, 30 (6), 1506–15.
<http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.006>

- Gajda, I.; Greenman, J.; Melhuish, C.; and Ieropoulos, I. (2015). Self-sustainable electricity production from algae grown in a microbial fuel cell system. *Biomass and Bioenergy*, 82, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.05.017>
- Hallenbeck, P.; Leite, G.; and Abdelaziz Ahmed, E. M. (2014). Exploring the diversity of microalgal physiology for applications in wastewater treatment and biofuel production. *Algal Research*, Vol. 6, pp. 111–118. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926414000897>
- Kouzuma, A. and Watanabe, K. (2015). Exploring the potential of algae–bacteria interactions. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 125–9. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.02.007>
- Maity, Jyoti Prakash and Chen, Chien-Cheng. (2014). The production of biofuel and bioelectricity associated with wastewater treatment by green algae. *Energy*, Vol. 78, pp. 94–103. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S036054421400721X>
- MALGAS. (2013). Aplicaciones de las microalgas: estado de la técnica, 72.
- Miranda, A. F.; Taha, M.; Wrede, D.; Morrison, P.; Ball, A. S.; Stevenson, T.; and Mouradov, A. (2015). Lipid production in association with filamentous fungi with genetically modified cyanobacterial cells. *Biotechnology for Biofuels*, 8 (1), 179. <http://doi.org/10.1186/s13068-015-0364-2>
- René H. Wijffels and Maria J. Barbosa (2010). An Outlook on Microalgal Biofuels. *Science*, Vol. 329 No. 5993 pp. 796–799. DOI: 10.1126/science.1189003
- Richardson, J.; Johnson, M.; Zhang, X.; Zemke, P.; Chen, W.; and Hu, Q. (2014). A financial assessment of two alternative cultivation systems and their contributions to algae biofuel economic viability. *Algal Research*, Vol. 4, pp. 96–104. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926413001215>
- Rogers, J. and Rosenberg, J. (2014). A critical analysis of paddlewheel-driven raceway ponds for algal biofuel production at commercial scales.
- Sarkar, O.; Agarwal, M.; Naresh, K.; and Venkata, M. (2015). Retrofitting heterotrophically cultivated algae biomass as pyrolytic feedstock for biogas, biochar and bio-oil production encompassing biorefinery. *Bioresource Technology*,

- Vol. 178, pp. 132–138. *Biotechnology advances*.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852414013297>
- Scaife, M.; Merckx-J.; Woodhall, D.; and Armenta, Roberto E. (2015). Algal biofuels in Canada: Status and potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Vol. 44, pp. 620–642.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032114010764>
 - Scholz, M. J.; Weiss, T. L.; Jinkerson, R. E.; Jing, J.; Roth, R.; Goodenough, U.; ... Gerken, H. G. (2014). Ultrastructure and composition of the *Nannochloropsis gaditana* cell wall. *Eukaryotic Cell*, 13 (11), 1450–64.
<http://doi.org/10.1128/EC.00183-14>
 - Snow, A. A. and Smith, V. H. (2012). Genetically Engineered Algae for Biofuels: A Key Role for Ecologists. *BioScience*, 62 (8), 765–768.
<http://doi.org/10.1525/bio.2012.62.8.9>
 - Vítová, M.; Bišová, K.; Kawano, S.; Zachleder, V. (2015). Accumulation of energy reserves in algae: From cell cycles to biotechnological applications. *Biotechnology advances*, Vol. 33, pp. 1204–1218.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975015000919>
 - Xavier Elias Castells y Lorena Jurado. (2012). *El hidrógeno y las pilas de combustible*. Madrid: DÍAZ DE SANTOS.